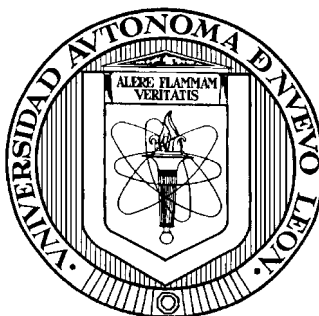


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**Evaluación de la actividad de extractos de plantas del noreste de México  
contra larvas de *Aedes aegypti* L**

**Por**

**Q.C.B Yael C. de la Torre Rodríguez**

**Como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRIA EN CIENCIAS  
con Orientación Terminal en Química Biomédica**

**Febrero 2009**

## APENDICE A

Plaguicidas				Mosquiticidas	
Nombre común	Nombre científico	Referencia	Nombre común	Nombre científico	Referencia
Muicle	<i>Justicia spicigera</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i>	Grieve M, 2009
Barbarón	<i>Xanthosoma robustum</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Ajo	<i>Allium sativum</i>	Gonzalo S, 2002
Quiebra muelas, ponchihiuchi	<i>Asclepias curassavica</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Albahacar	<i>Ocimum basilicum</i>	Gonzalo S, 2002
Mozote	<i>Bidens pilosa</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Grieve M, 2009
Chamisa, Mata pulgas	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Angélica	<i>Angelica archangelica</i>	Grieve M, 2009
Cempoalxóchitl, cempoal	<i>Tagetes erecta</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Barbasco	<i>Verbascum thapsus</i>	Alonso J, 2009
Copal	<i>Protium copal</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Canela	<i>Cinnamomum Zeylanicum</i>	Avendaño E, 2009
Para de cabra	<i>Bauhinia divaricata</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Cardo Santo	<i>Argemone subfusiformis</i>	Avendaño E, 2009
Epazote	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Zacate limón	<i>Cymbopogon nardus</i>	Grieve M, 2009
Totopo, tronador	<i>Kalanchoe pinnata</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Dragoncillo	<i>Artemisia dracunculus</i>	Grieve M, 2009
Pesma, tepezincoyole	<i>Cyathea mexicana</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Eucalipto	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Avendaño E, 2009
Solimán	<i>Croton pulcher</i>	CONABIO, 2009	Hierbabuena	<i>Mentha piperita</i>	Alonso J, 2009
Higuerilla, ricino	<i>Ricinus communis</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Lantana	<i>Lántana cámara</i>	Grieve M, 2009
Flor del sol	<i>Gliricidia sepium</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i>	Grieve M, 2009
Suchiate, somerio	<i>Liquidambar macrophylla</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Manzanilla	<i>Matricaria chamomilla</i> ,	Alonso J, 2009
Hierba negra	<i>Hyptis verticillata</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Marco	<i>Ambrosia peruviana</i>	Grieve M, 2009
Mastranto, mastranzo	<i>Mentha rotundifolia</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Melia	<i>Melia azaderach</i>	Alonso J, 2009
Aguacate, oloroso	<i>Persea americana</i> Miller	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Menta	<i>Mentha rotundifolia</i>	Grieve M, 2009
Aguacate del monte	<i>Persea schiedeana</i> Nees	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Muña	<i>Minthostachys mollis</i>	Alonso J, 2009
Pulguilla, tepechute	<i>Thryallis glauca</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Naranja	<i>Citrus sinensis</i>	Avendaño E, 2009
Cedro, teocuáhuatl	<i>Cedrela odorata</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Grieve M, 2009
Naranjillo, Xupilcuáhuatl	<i>Trichilia havanensis</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Romero	<i>Rosemaryinus officinalis</i>	Grieve M, 2009
Guayabo	<i>Psidium guajava</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Ruda	<i>Ruta graveolens</i>	Gonzalo S, 2002
Chicalote	<i>Argemone mexicana</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	Alonso J, 2009
Yamol, amole	<i>Phytolacca icosandra</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>	Gonzalo S, 2002
Pino, ocote	<i>Pinus greggi</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005	Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Alonso J, 2009
Zapote, 3hojitas	<i>Hamelia patens</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005			
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>	Villavicencio M, Pérez B. 2005			

## **Resumen Autobiográfico**

**Yael C. De la Torre Rodríguez**

**Candidato para el Grado de**

**Maestro en Ciencias con Orientación terminal en Química Biomédica**

**Tesis: Evaluación de la actividad de extractos de plantas del noreste de México contra larvas de *Aedes aegypti* L.**

**Área de estudio: Química Analítica**

### **Biografía:**

**Datos Personales:** Nacida en Poza Rica de Hgo, Veracruz, el 26 de agosto de 1982, hija de Olivia Rodríguez Pérez.

**Educación:** Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, grado obtenido de Químico Clínico Biólogo en 2005.

**Experiencia profesional:** Practicante en diversos laboratorios clínicos de Monterrey Nuevo León en Abril-Septiembre 2005. Químico en el Área de micología del Centro de control de enfermedades Infecciosas, Monterrey N.L. Noviembre 2005 - Febrero 2006. Auxiliar docente en el departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina en el laboratorio de Física y Fisicoquímica y colaboración en investigación de productos naturales. Marzo 2006- Agosto 2006

Actualmente auxiliar docente en el departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina en Análisis Instrumental I y II y colaboración en investigación de productos naturales.

**Evaluación de la actividad de extractos de plantas del noreste  
de México contra larvas de *Aedes aegypti* L.**

Aprobación de tesis:

---

**Dr. Ricardo Salazar Aranda**  
Director de Tesis

---

**Dra. Noemí Waksman de Torres**  
Comisión de Tesis

---

**Dra. Adriana Flores Suárez**  
Comisión de Tesis

---

**Dr. Dionicio Galarza Delgado**  
Subdirector de Estudios de Posgrado

**Evaluación de la actividad de extractos de plantas del noreste  
de México contra larvas de *Aedes aegypti* L.**

Presentado por:

**Q.C.B Yael C. De la Torre Rodríguez**

Este trabajo se realizó en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en el Departamento de Entomología Médica de la Facultad de Biología de la misma institución, bajo la dirección del Dr. Ricardo Salazar Aranda y la Co-dirección de la Dra. Adriana Flores Suárez y la Dra. Noemí Waksman de Torres.

**Director**

---

Dr. Ricardo Salazar Aranda

**Co-Directores**

---

Dra. Adriana Flores Suárez

---

Dra. Noemí Waksman de Torres

*No hay nada físico que no tenga un alma escondida. No existe nada que no tenga escondido un principio de vida. No sólo los objetos que se mueven, como el hombre y los animales, los gusanos de la tierra, los pájaros del aire y los peces de las aguas, sino todas las cosas físicas y esenciales tienen vida.*

***Paracelso***

## **AGRADECIMIENTOS**

A la mujer que me dio y me enseñó a disfrutar del regalo más maravilloso que existe, mi estrella que me acompaña siempre.

A mis abuelos, muchas de mis cualidades son aprendidas de ustedes, y en muchos de los logros de mi estrella y míos han sido con su ayuda. Abue espero parecerme mucho a ti cuando tenga tu edad, te quiero.

A mis tíos y Beto que llenan con alegría y amor todo nuestro alrededor.

A mis hermanos y a mis mejores amigos que quiero como hermanos, un completo GRACIAS TOTALES.

A mi galleta por hacer mi vida más feliz, por todo lo que hemos compartido y crecido juntos, tu familia y tú enriquecen mi mundo.

Al Dr. Ricardo por toda la ayuda que me brindó, y la gran cantidad de veces que me ha tendido la mano.

A la Dra. Adriana por aceptarnos al Dr. y a mí para trabajar con usted y por la disposición que ha tenido.

A la Dra. Waksman por compartir sus conocimientos, y por el apoyo que me ha brindado desde el día que llegué al departamento.

A Ivonne y Alex, el laboratorio no sería tan genial sino estuvieran ustedes.

A las Maestras Lydia, Elsa y a las Dras Vero y Rocio por ser además de excelentes profesoras excelentes compañeras en todo momento.

A perikita y Karinawer, nenas las quiero mucho, compartimos alegrías, tristezas y berrinches, tenerlas como amigas ha hecho mi vida más agradable.

A mis compañeritos de posgrado, por todo el gran apoyo y apapacho que me dieron, y por el próximo baile de la posada, en la que volveremos a ganar.

A Normita, Blanca, Marthita, Maribel, Gloria, Vero, Chela, Agustín, Lucy, Annie, Richard, gracias por todos sus consejos.

A Paicyt por el apoyo económico para que pudiera realizarse este trabajo.

A Conacyt por la beca de manutención para poder realizar la maestría.

## RESUMEN

Yael C. De la Torre Rodríguez  
Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Medicina

Fecha de Graduación: Febrero 2009

**Título del Estudio:** Evaluación de la actividad de extractos de plantas del noreste de México contra larvas de *Aedes aegypti* L.

**Número de páginas:** 51

**Candidato para el grado de Maestría en Ciencias con orientación terminal en Química Biomédica**

**Área de Estudio:** Química Analítica

**Propósito y Método del Estudio:**

Debido a que el problema del dengue en América sigue creciendo por el aumento alarmante de la población de *Aedes aegypti*, los gobiernos invierten grandes cantidades de dinero en tratar de prevenir y/o controlar su crecimiento, sin embargo, éste va en aumento. Por esta razón se evaluó la actividad de extractos de plantas del noreste de México contra larvas del mosquito *Aedes aegypti* L. Basados en que los insecticidas naturales pueden representar menos problemas de contaminación ambiental, de residuos en alimentos, de toxicidad y de resistencia.

Se seleccionaron y se recolectaron once plantas en el estado de Nuevo León, utilizando criterios etnobotánicos y quimiotaxonómicos. La parte aérea de las plantas secas se extrajeron con éter etílico y posteriormente el residuo con metanol. Se trabajó con la cepa de *Aedes aegypti*, Nuevo Orleans y la actividad larvicida se analizó con veinte larvas en tercer y cuarto instar frente a diferentes concentraciones de cada extracto. La mortalidad se determinó a las 2, 12, 18 y 24h y posteriormente se calculó la CL<sub>50</sub>. Los datos de mortalidad de las larvas obtenidos con los extractos etéreos y metanólicos analizados a tres concentraciones diferentes se sometieron a análisis en el programa SPSS para calcular la CL<sub>50</sub>, donde los extractos etéreos con mejor actividad fueron Ruda, Uña de gato y Tomillo, por lo que se obtuvieron sus aceites esenciales a partir de material fresco por medio de hidrodestilación. La actividad de los extractos etéreos y de los aceites esenciales fue evaluada sobre dos cepas de *Aedes aegypti*, Nuevo Orleans y una población local de la colonia Enramada de Guadalupe N. L. Los datos de los extractos etéreos y los aceites esenciales de Ruda, Tomillo y Uña de gato, analizados a cinco concentraciones diferentes, se sometieron al programa Probit para precisar la CL<sub>50</sub> sobre las dos poblaciones.

### Resultados

La población Nuevo Orleans fue la más sensible a todos los extractos y aceites probados. Las mortalidades de extractos etéreos y aceites se sometieron a una prueba t de student para determinar diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) y se demostró que la actividad larvicida de los aceites esenciales fue mayor en comparación con los extractos etéreos.

**Contribuciones y Conclusiones:** Los fitoinsecticidas constituyen una interesante alternativa de control de insectos, Ruda (*Ruta chalapensis*), Tomillo (*Thymus vulgaris*) y Uña de gato (*Zanthoxylum fagara*) demostraron actividad larvicida contra *Aedes aegypti*, siendo la de mayor actividad larvicida *Ruta chalapensis*. Se encontró que los aceites esenciales de estas tres plantas fueron los responsables de su actividad larvicida.

**FIRMA DEL DIRECTOR:**

---

Dr. Ricardo Salazar Aranda



## TABLA DE CONTENIDO

Página	
TABLA DE CONTENIDO.....	i
INDICE DE TABLAS.....	iii
INDICE DE FIGURAS.....	iv
ABREVIATURAS Y SIMBOLOS.....	v
<b>1 INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
1.1 Generalidades del dengue.....	1
1.1.1 Ciclo vital de <i>Aedes aegypti</i> .....	2
1.2 Distribución e incidencia del dengue.....	4
1.2.1 Dengue en el mundo.....	4
1.2.2 Dengue en América.....	5
1.2.3 Dengue en México.....	7
1.2.4 Dengue en Nuevo León.....	9
1.3 Control del dengue.....	10
1.3.1 Control del vector.....	11
1.3.1.1 Control físico.....	11
1.3.1.2 Control biológico.....	11
1.3.1.3 Control químico.....	12
1.3.2 Insecticidas.....	12
1.3.2.1 Insecticidas organofosforados.....	13
1.3.2.1.1 Abate.....	14
1.3.2.2 Insecticidas biorracionales.....	14
1.4 Las plantas y el dengue. Una alternativa de control.....	16
1.5 Justificación.....	18
1.6 Objetivo general.....	19
1.7 Objetivos específicos.....	19
<b>2 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
2.1 Material, Equipo y Reactivos.....	20
2.1.1 Material biológico.....	20
2.1.2 Material de laboratorio.....	21
2.1.3 Equipo.....	22
2.1.4 Reactivos.....	22
2.1.4.1 Solventes.....	22
2.1.4.2 Reactivos especiales.....	22
2.2 Métodos.....	23
2.2.1 Selección y colecta de plantas.....	23
2.2.2 Obtención de los extractos de las plantas.....	23
2.2.3 Extracción de los aceites esenciales.....	24
2.2.4 Bioensayo.....	24
2.2.4.1 Obtención de huevecillos.....	24
2.2.4.2 Crecimiento de larvas.....	25
2.2.4.3 Evaluación de la actividad larvica.....	25
2.2.4.4 Análisis estadístico.....	26

<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b>	27
	3.1 Selección colecta e identificación de plantas	27
	3.2 Extracción de las plantas	28
	3.3 Actividad larvica de los extractos	29
	3.4 Extracción de aceites esenciales	29
	3.5 Actividad larvica de aceites esenciales	30
	3.6 Actividad larvica de extractos etéreos sobre <i>Aedes aegypti</i> variedad Nuevo Orleans y población local	34
	3.7 Evaluación de diferencia significativa entre aceites esenciales y extractos etéreos	34
<b>4</b>	<b>DISCUSION</b>	37
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	44
<b>6</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	45
	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	46

## INDICE DE TABLAS

Tabla		Página
Tabla I.	Casos de dengue clásico y dengue hemorrágico en México 2006 y 2007.	8
Tabla II.	Casos de dengue clásico y hemorrágico en Nuevo León 2007.	9
Tabla III.	Algunos insecticidas que se han usado a través del tiempo	13
Tabla IV.	Lista de plantas colectadas y adquiridas	28
Tabla V.	Porcentajes de recuperación de extractos etéreos y Metanólicos	28
Tabla VI.	Porcentajes de recuperación de los aceites Esenciales	29
Tabla VII.	CL <sub>50</sub> de extractos etéreos sobre larvas <i>Aedes aegypti</i> variedad Nuevo Orleans (ppm)	31
Tabla VIII.	CL <sub>50</sub> de extractos metanólicos sobre larvas <i>Aedes aegypti</i> variedad Nuevo Orleans (ppm)	32
Tabla IX.	CL <sub>50</sub> de aceites esenciales sobre larvas <i>Aedes aegypti</i> variedad Nuevo Orleans (ppm)	33
Tabla X.	CL <sub>50</sub> de aceites esenciales sobre larvas <i>Aedes aegypti</i> población local (ppm)	33
Tabla XI.	CL <sub>50</sub> de extractos etéreos sobre larvas <i>Aedes aegypti</i> variedad Nuevo Orleans (ppm)	35
Tabla XII.	CL <sub>50</sub> de extractos etéreos sobre larvas <i>Aedes aegypti</i> población local (ppm)	35
Tabla XIII.	CL <sub>50</sub> 24h sobre la población Nuevo Orleans (ppm)	36
Tabla XIV.	CL <sub>50</sub> 24h sobre la población local (ppm)	36

## INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Fig. 1 Ciclo de vida de <i>Aedes aegypti</i>	4
Fig. 2 Evolución de la situación histórica del dengue y dengue hemorrágico en las Américas 1980-2007	7
Fig. 3 Casos de DH en México según Estados afectados	8
Fig. 4 Estructura Química de Temefos	14

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

%	Por ciento
±	Mas, menos
°C	Grados centígrados
<	menor que
μL	Microlitros
Biol	Biólogo
CL <sub>50</sub>	Concentración Letal Media
cm	centímetros
cols	colaboradores
g	gramos
h	hora
L	Litros
mL	Mililitros
mm	Milímetros
N. L	Nuevo León
Nº	Número
ppm	partes por millón
rpm	Revoluciones por minuto
US\$	Dólares

## **CAPITULO 1**

### **INTRODUCCION**

#### **1.1 Generalidades del dengue**

El dengue es un problema creciente de salud pública en el mundo. La OMS lo considera como la segunda infección re-emergente más importante entre las enfermedades tropicales y como una de las principales enfermedades virales transmitidas al hombre por artrópodos (Blanco, 2004).

Clínicamente la enfermedad cursa como una forma benigna autolimitada de fiebre indiferenciada llamada Fiebre por Dengue (FD), o como formas más severas denominadas Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) y Síndrome de Choque por Dengue (SCD), las cuales pueden ser fatales para el ser humano (Monath, 1994).

La infección es producida por alguno de los cuatro serotipos del virus dengue pertenecientes a la familia Flaviviridae y es transmitida al hombre por mosquitos vectores. En Asia el principal vector es *Aedes albopictus* y en América es *Aedes aegypti* (Monath, 1994).

Se conocen tres variedades principales del mosquito de la especie *Ae. aegypti* var. *aegypti*, var. *formosus* y var. *queenslandensis*. La variedad *aegypti* es la más distribuida en el mundo (CENAVE, 2008). Esta especie establece sus criaderos en agua con un poco de materia orgánica y de sales disueltas, mediante la puesta de huevos en la superficie del recipiente a la altura de la interfase agua-aire. Ejemplos de su hábitat son: depósitos de agua ubicados en objetos como botellas, floreros y piletas, construcciones, neumáticos, entre otros (OPS, 1995).

#### **1.1.1 Ciclo vital de *Aedes aegypti* (L.)**

*Aedes aegypti*, como todos los mosquitos, tiene dos etapas bien diferenciadas en su ciclo vital: una fase acuática que incluye tres formas evolutivas diferentes: huevo, larva y pupa y una fase aérea o de adulto (Figura 1. CENAVE, 2008).

Los huevos, menores a un milímetro de largo, son inicialmente de color blanco, en óptimas condiciones de temperatura y humedad; se tornan negros con el desarrollo del embrión que evoluciona en un lapso de 2 a 3 días. La mayor parte de los huevos eclosionan rápidamente, mientras un porcentaje reducido no lo hacen, estos últimos son conocidos como huevos resistentes, inactivos o residuales, capaces de largas sobrevivencias (Fernández, 1999).

Después de la eclosión se inicia un ciclo de cuatro estados larvarios (primer, segundo, tercer y cuarto instar), en el cual ocurren tres mudas: las larvas crecen desde 1 mm hasta 6 ó 7 mm. Las características morfológicas típicas de las larvas son: fuertes espículas torácicas laterales quitinizadas, peine de escamas unilinear en el octavo segmento y sifón con forma de oliva corta, que destaca por su color negro. En esta etapa se alimentan del fitoplancton que se encuentra en los recipientes en los que habitan (Fernández, 1999).

Su desarrollo se completa entre 5 y 7 días en condiciones favorables de nutrición y con temperaturas de 25 a 29°C. En este ciclo están dotadas de movimientos característicos en forma de S, verticales entre fondo y superficie. Las larvas son incapaces de resistir temperaturas inferiores a 10°C, o superiores a 46°C. Después del cuarto instar, la larva comienza a secretar una cubierta por todo su cuerpo que finalmente la encierra, es la pupa. Dentro de esta cubierta, la pupa deja de alimentarse y sólo flota y nada con sus aletas caudales. Así durante 24 a 48 horas, los tejidos del cuerpo larval desarrollan las alas en el tórax, tres pares de patas, un aparato bucal modificado para picar, ovarios, glándulas salivales, y enzimas digestivas. El desarrollo de la pupa termina hasta la emergencia del adulto (CENAVE, 2008).

En óptimas condiciones de temperatura y alimentación, el ciclo completo de *Ae. aegypti*, de huevo a adulto se completa en 10 días (Fernández, 1999).

El adulto emergente, es un mosquito de color negro, con diseños blanco-plateados formados por escamas claras que se disponen en el dorso del tórax, y mostrando un anillado característico a nivel de tarsos, tibia y fémures de las patas.



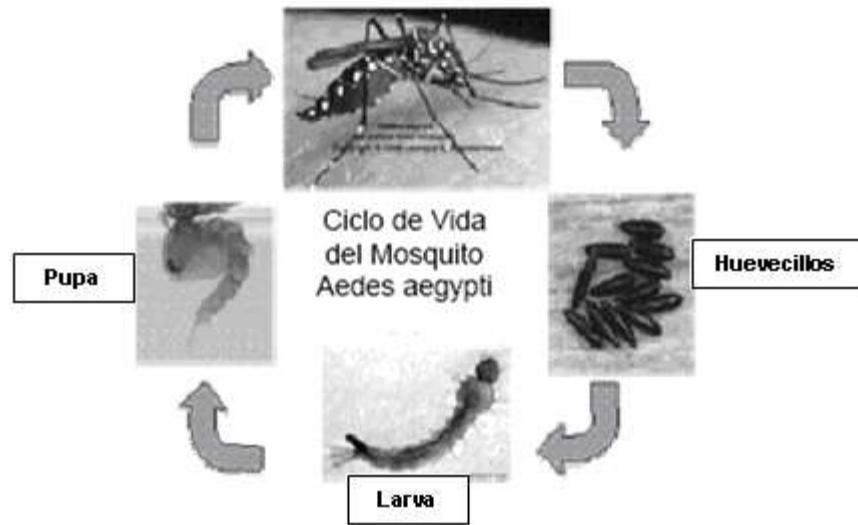


Figura 1. Ciclo de vida de *Aedes aegypti*.

## 1.2 Distribución e incidencia del dengue

### 1.2.1 Dengue en el mundo

Aproximadamente dos quintas partes de la población mundial se encuentran en riesgo debido a que más de 100 países han sufrido brotes de fiebre por dengue o de fiebre hemorrágica del dengue. La incidencia anual de enfermos por dengue alcanza hasta 50 millones de casos por año, de los cuales 500,000 pacientes son hospitalizadas y 20,000 de ellos mueren. La

mayoría de los casos de dengue hemorrágico ocurre en niños menores de 15 años de edad (OPS, 1999).

La diseminación geográfica de los mosquitos vectores y por lo tanto de los virus en el transcurso de los últimos 25 años ha provocado un resurgimiento mundial del dengue y del dengue hemorrágico epidémico, siendo endémicos la mayor parte de los centros urbanos de las regiones tropicales. Cerca de 2,500 millones de personas viven en zonas tropicales en las que pueden transmitirse los virus del dengue. Antes de 1970, sólo nueve países se habían enfrentado al dengue hemorrágico epidémico, en la actualidad, el número de países se ha incrementado a más del cuádruple y continúa en aumento (OPS, 2007. OMS, 2007).

### **1.2.2 Dengue en América**

En 1996, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) diseñó un plan continental para ampliar e intensificar el control de *Ae. aegypti*. El objetivo fue lograr un nivel de infestación cerca de cero, para erradicar el vector. El costo del plan se estimó en 1.6 mil millones de dólares por año para todos los países de la región.

Los países con dengue endémico han gastado grandes sumas de dinero las cuales aumentan cada año. En 1996, 25 países endémicos gastaron US\$331 millones, y en 1997 el gasto fue de US\$671 millones. Combinando las dificultades de asegurar este nivel de presupuesto para un solo programa y el hecho de que estos programas no están teniendo una influencia

epidemiológica significativa, es necesario encontrar nuevas opciones para asegurar los resultados deseados (OPS, 1999).

En 1998 el dengue era endémico en 42 naciones americanas. Durante el periodo de 1984-1990 se registraron epidemias en Venezuela (1989-90, 1997, 1998), Colombia (1984, 1986, 1989-90), Brasil (1986-87, 1990-91, 1995-96, 1998-99) Puerto Rico (1994), Nicaragua (1994), México (1995) y Cuba (1997). El número de casos notificados de dengue hemorrágico en América ha aumentado marcadamente. De los 54,137 casos de dengue hemorrágico notificados en América en la década de los 90's, 29,289 casos (54%) ocurrieron durante 1996-1998, y más del 80% de estos casos fueron notificados en Colombia y México siendo notorio el agravamiento del problema en dicho período.

En el 2001 se registraron 609 000 casos de dengue, de los cuales 15 000 correspondieron al tipo hemorrágico, lo que representó un incremento de casi 50% en el número de pacientes afectados en comparación con los detectados en 1995 (Figura 2. Iturrino, 2006).

En el período del 2001 al 2006 en América se notificaron 3 419 919 casos de dengue, incluidos 79 664 casos de dengue hemorrágico y 982 defunciones. En febrero del 2007 la OPS/OMS emitió una alerta a toda la región para extremar las acciones de prevención y control. Paraguay, Bolivia, México y Brasil ya habían notificado brotes de dengue durante los primeros meses del año. Este fue el primer reporte en la historia de Paraguay de casos de dengue hemorrágico y muertes. Al término del 2007 se reportó en toda América un total de 892 218 casos de dengue (OPS, 2007).



Figura 2. Evolución de la situación histórica del dengue y dengue hemorrágico en las Américas 1980-2007

Existe la posibilidad de que la magnitud del problema del dengue en América siga creciendo, debido a un aumento alarmante de la población de *Ae. aegypti*. La urbanización rápida y desorganizada así como la proliferación de las colonias marginadas en la mayoría de las ciudades de América Latina brindan los materiales de desecho y los envases ideales para que *Ae. aegypti* se reproduzca.

### 1.2.3. Dengue en México

A partir de 1984 se registraron casos de dengue hemorrágico en el país, históricamente los estados con más casos de dengue reportados son: Sonora, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa, Veracruz, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Campeche, Yucatán y



Figura 3. Casos de DH en México según Estados afectados 1984-2002.  
CENAVE, 2008

En el año 2006 se presentaron aproximadamente 27 000 casos de dengue. En el año 2007 de acuerdo con cifras oficiales, México ocupó el tercer lugar de incidencia en América Latina, con 40,559 casos de dengue clásico y 7,897 de fiebre hemorrágica. (Tabla I. PAHO, 2007. Secretaría de Salud, 2007). A pesar de que el mosquito se encuentra en todo el país, la zona norte y sur son las más afectadas al tener condiciones climáticas que favorecen la reproducción de *Ae. aegypti* (Secretaría de salud, 2008).

Tabla I Casos de dengue clásico y dengue hemorrágico en México 2006 y 2007

Casos de dengue clásico y hemorrágico en México					
Probables		Confirmados			
2006	2007	2006		2007	
		DC	DH	DC	DH
68 147	132 436	22 566	4 426	40 559	7 897

#### 1.2.4. Dengue en Nuevo León

La Secretaría de Salud del Estado de Nuevo León confirmó que en el año 2007 se registraron 2,343 casos de dengue, y 821 casos de dengue hemorrágico, principalmente en los municipios de Villaldama, Lampazos de naranjo, Apodaca, Escobedo, Linares, Monterrey, San Nicolás, Cadereyta y Santa Catarina (CENAVE, 2008. Montiel 2007).

Tabla II. Casos de dengue clásico y hemorrágico en Nuevo León 2007

<b>Municipio</b>	<b>Casos dengue clásico</b>	<b>Casos dengue hemorrágico</b>
Villaldama	17	0
Lampazos de Naranjo	9	0
Resto	2317	821
Total	2343	821

En el 2008, el estado de Nuevo León reportó 715 casos de dengue (Gobierno del Estado de Nuevo León, 2008).

### **1.3 Control del dengue**

El control de la enfermedad es costoso y las epidemias ocasionan un importante impacto negativo en el desarrollo socioeconómico de los países (OPS, 1999).

Además del sufrimiento que infligen tales enfermedades contagiosas, éstas constituyen una pesada carga económica, sobre todo para los países en vías de desarrollo. Un solo brote de enfermedad puede resultar muy caro. Las naciones más afectadas tardarían en crecer en sentido económico hasta que dichos problemas de salud se encuentren bajo control.

Debido a que actualmente no se cuenta con una vacuna para prevenir el dengue, las estrategias de control de la enfermedad deberían adoptar otro enfoque más integrado, como la estratificación epidemiológica de las actividades de control del vector, la comunicación social, la educación sanitaria y la motivación comunitaria con base en apropiación del problema (De la Cruz, 2001).

### **1.3.1. Control del vector**

El control del vector se refiere a las actividades realizadas a través de métodos físicos, químicos ó biológicos, dirigidas a la eliminación o control de cualquier depósito donde se pueda desarrollar cualquier tipo de mosquito, especialmente *Ae. aegypti*. El control puede llevarse acabo matando al insecto o impidiendo que tenga un comportamiento considerado como destructivo.

#### **1.3.1.1 Control físico**

El control físico consiste en colocar una barrera física de forma temporal o definitiva entre el mosquito transmisor del dengue y los recipientes contenedores de agua. Estas actividades incluyen el control de recipientes al lavar, tallar, voltear, destruir, cubrir, proteger bajo techo o evitar el almacenamiento de agua en todos los recipientes que sean capaces de criar larvas de mosquitos. Asimismo, desechar todos aquellos recipientes que no tengan ninguna utilidad para los moradores de la vivienda, siempre y cuando se cuente con la autorización del propietario.

#### **1.3.1.2 Control biológico**

Involucra la utilización de modelos ecológicos depredador-presa, que reducen las poblaciones larvales, tal es el caso de los peces larvífagos que se introducen en los contenedores de agua. Existen otros modelos de control biológico como es el caso del *Bacillus thuringiensis*, el cual tiene acción sobre las células del intestino de los insectos, ya que las toxinas bacterianas se unen



a receptores específicos y forman poros que conducen a la lisis de estas células y a la muerte de los insectos.

#### **1.3.1.3 Control químico**

El control químico proporciona mayor rendimiento e impacto contra los mosquitos en sus etapas larvarias, ya que utiliza productos con efecto larvicida. Se utiliza única y exclusivamente en los depósitos y recipientes en los que no se puede realizar el control físico y que representan un riesgo significativo de convertirse en criaderos de mosquitos, tal es el caso de los tambos, pilas, piletas, tinacos y cisternas sin tapa, en los que por su uso y manejo son susceptibles de convertirse en criaderos. Entre los más importantes métodos de control químico están los insecticidas (CENAVE, 2008).

#### **1.3.2. Insecticidas.**

Los insecticidas pueden ser naturales o sintéticos y son aplicados a las especies blanco en un gran número de formulaciones y sistemas de aplicación (aspersores, colocación de cebos, difusión de liberación lenta, etc). Recientemente se han incorporado códigos genéticos bacterianos de proteínas insecticidas en varias plantas de cultivo que causan la muerte a insectos que se alimentan de ellas (EPA, 2007).

Tabla III Algunos de los insecticidas que se han usado a través del tiempo.

Organoclorados	El diclorodifeniltricloroetano (DDT) aún es usado con efectividad para control de malaria en varios países del tercer mundo.
Organosulfurosos	Poseen bajo poder insecticida, solo son usados como acaricidas.
Organofosfatos	Toxicidad alta.
Carbamatos	El carbarilo se ha vendido más que el resto de ellos, por su baja toxicidad oral y dermal hacia mamíferos.
Formamidinas	Su valor actual está en el control de plagas resistentes a los organofosfatos y a los carbamatos
Dinitrofenoles	Debido a su toxicidad alta todos han sido retirados.
Pirazoles	Acaricidas de contacto y por ingestión.
Benzoilúreas.	Su máximo valor está en el control de orugas y larvas de escarabajos.
Piretroides	<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i> . Poco utilizado para fines agrícolas, por costo, inestabilidad a luz solar.
Nicotinoides	<i>Nicotiana tabacum</i> . Clase más novedosa de insecticidas.

(Ware, Whitacre, 2004).

### 1.3.2.1 Insecticidas Organofosforados

Una clase de los insecticidas convencionales mas utilizados son los organofosforados (OPs), que se derivan del ácido fosfórico. Los OPs tienen dos características distintivas: generalmente son mucho más tóxicos para los vertebrados que otras clases de insecticidas y la mayoría son químicamente inestables o no persistentes, esta última característica fue la que los promovió para su uso agrícola como substitutos de los organoclorados que son mucho más persistentes.

Debido a la toxicidad relativamente alta de los OPs, la Agencia de Protección Ambiental (EPA), realizó una extensa reevaluación de la clase. Por lo anterior muchos OPs fueron cancelados voluntariamente y otros perdieron

usos. Existen pruebas cada día más fundamentadas de que este tipo de sustancias también desarrolla resistencia.

**1.3.2.1.1. Abate.** Uno de los insecticidas más empleados es el Temefos, conocido comúnmente como abate. Es un insecticida químico organofosforado de gran importancia en salud pública. La OMS lo recomienda como método para el control del dengue, porque lo que se aplica a nivel mundial como larvicida para el control del mosquito *Ae. aegypti*.

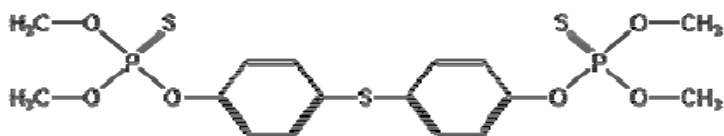


Figura 4. Estructura química de Temefos

El abate se disuelve en el agua de los criaderos de las larvas, éstas al ingerirlo les produce la muerte. Sin embargo, las pupas no filtran agua y por lo tanto, el insecticida comercial les resulta inofensivo. Desafortunadamente, su uso intensivo ya ha empezado a generar resistencia en los insectos en algunos países (Domínguez, 2005).

### 1.3.2.2 Insecticidas biorracionales

El uso masivo de insecticidas de origen vegetal ha tenido un camino muy difícil. El primer insecticida natural como tal, apareció en el siglo XVII cuando se demostró que la nicotina de hojas de tabaco, mataba a unos escarabajos que atacaban al ciruelo. En 1850 se introdujo un nuevo insecticida vegetal conocido como rotenona que se obtuvo de las raíces de una planta conocida como timbó (*Derris elliptica*). Posteriormente se usaron plantas con propiedades irritantes como la sabadilla (*Veratrum sabadilla*), que se utilizaba para descongestionar las fosas nasales, o el incienso que no mataban directamente a los insectos pero los ahuyentaba.

Al inicio las recopilaciones de información de plantas que se usaban como insecticidas entre los agricultores e indígenas, tenían mucho de superstición y

cuando se les sometió a pruebas con rigor científico no mostraron efecto alguno. Cerca de 1950, las pocas plantas que mostraron resultados auspiciosos y alcanzaron a usarse masivamente, fueron reemplazadas por los insecticidas sintéticos. Con la aparición de los insecticidas sintéticos se creyó que los insecticidas vegetales desaparecerían, pero problemas como la contaminación del ambiente, los residuos en los alimentos, problemas de toxicidad y la resistencia por parte de los insectos, han hecho que hoy en día los insecticidas naturales, conocidos también como biorracionales, vuelvan a ser tomados en cuenta (Gonzalo, 2002).

Insecticida biorracional se refiere a cualquier sustancia de origen natural o semisintética, que tiene un efecto negativo o letal cuando se utilizan solos o en combinación con insecticidas convencionales, sobre plagas objetivo específicas. Estos insecticidas poseen un modo de acción único, generalmente no son tóxicos para los humanos ni para plantas o animales domésticos y requieren bajas dosis de uso. Tienen un efecto que no es adverso, o lo es muy poco, sobre la vida silvestre y el medio ambiente, además reducen la dependencia en los productos pesticidas convencionales (EPA, 2007).

Los insecticidas biorracionales se clasifican de forma general como: bioquímicos y microbiales. Los bioquímicos actúan a través de hormonas, enzimas, feromonas y agentes naturales, tales como reguladores del crecimiento de las plantas y los insectos. Los microbiales actúan sobre virus, bacterias, hongos, protozoarios, y nemátodos (EPA, 2008).

El uso de los insecticidas biorracionales llegó su máximo en EEUU en 1966, y desde entonces ha declinado de manera continua. Actualmente el piretro es el único producto botánico clásico que tiene un uso significativo. Algunos insecticidas más nuevos derivados de las plantas que han entrado en uso, son denominados florales o productos químicos con aroma de plantas y contienen, entre otros ingredientes: limoneno, cinnamaldehído y eugenol (EPA, 2008).

#### 1.4 Las plantas y el dengue. Una alternativa de control

Desde la antigüedad las plantas han sido un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y la curación de sus enfermedades. Hace 400 000 años aproximadamente, muchos mamíferos utilizaban de manera instintiva ciertas plantas para el alivio o la curación de algunas molestias o enfermedades. En sus inicios la experiencia humana sobre la selección y empleo de plantas con diversos fines debió producirse en parte al menos por un mecanismo espontáneamente aprendido de ensayo y error que también usaban los primates y muchas otras especies (Valdez y cols, 2002).

El uso de las plantas en medicina tiene una historia honorable, ya que en determinados momentos todos los medicamentos se obtenían de fuentes naturales. Este evento dio lugar al establecimiento de una relación muy cercana y productiva entre el hombre y su medio vegetal (Carballo y cols 2005).

Las plantas curativas son el recurso terapéutico por excelencia de la medicina tradicional mexicana, que en gran parte es aún rescatable y puede constituir un importante elemento para implementar nuevos planes de salud, que combinen el conocimiento popular con el científico. (Canales y cols 2006.)

Particularmente en México y otros países de América Central es común encontrar prácticas de control de plagas con recomendaciones de plantas que datan del tiempo de los aztecas y mayas. Un ejemplo de esto es la práctica de mezclar el maíz y frijol con ají (*Capsicum frutescens*), ruda (*Ruta graveolens*) o ajo (*Allium sativum*).

Las plantas que son consideradas una de las fuentes de compuestos químicos más importante que existe constituyen una alternativa para obtener nuevos insecticidas biorracionales. Un gran porcentaje de los principios activos de plantas está comprendido dentro de los llamados metabolitos secundarios, que son compuestos químicos de estructura relativamente compleja, y de distribución más restringida y más característica de fuentes botánicas específicas, que los llamados metabolitos primarios. Estos últimos están universalmente distribuidos y tienen participación en la actividad celular de todos los seres vivos. A partir del metabolismo secundario se obtienen productos con funciones aleopáticas, atrayentes de los animales para la polinización y la dispersión de semillas, de defensa contra predadores, como los insectos, etc. Estas funciones son proporcionadas por compuestos que pertenecen a grupos como: alcaloides, esteroides, fenoles, flavonoides, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos y terpenoides (Gonzalo, 2002).

En la búsqueda de nuevas alternativas para el control larvicida de *Ae. aegypti* se han extraído compuestos con actividad larvicida de algunas plantas como: *Phryma leptostachya* (Il-Kwon y cols, 2005), *Eucalyptus grandis* (Lucia y cols, 2007), *Santalum album* (Zhu y cols, 2008), contribuyendo así a la búsqueda de nuevos larvicidas biodegradables de origen natural.

## 1.5 Justificación

Debido a que el problema del dengue en América sigue creciendo por el aumento alarmante de la población de *Ae..aegypti*, los gobiernos invierten grandes cantidades de dinero en tratar de prevenir y/o controlar su crecimiento, sin embargo, éste va en aumento. Por esta razón consideramos importante realizar un rastreo de plantas que puedan tener actividad insecticida, basados en que los insecticidas naturales pueden representar menos problemas de contaminación ambiental, de residuos en alimentos, de toxicidad y de resistencia.

## **1.6 Objetivo general**

Evaluar la actividad de extractos de plantas del noreste de México contra el mosquito *Ae. aegypti* L

## **1.7 Objetivos específicos**

- 1.- Seleccionar, coleccionar e identificar al menos 10 plantas utilizadas tradicionalmente como insecticidas.
- 2.- Obtener los extractos primarios de las plantas colectadas.
- 3.- Evaluar la actividad de los extractos primarios contra larvas de *Aedes aegypti*.
- 4.- Realizar la extracción de los aceites esenciales de las plantas activas.
- 5.- Evaluar la actividad de los aceites esenciales de las plantas activas contra larvas de *Ae. aegypti*



## CAPITULO 2

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 Material, Equipo y Reactivos

##### 2.1.1 Material biológico

- Se utilizó la parte aérea de las siguientes plantas:

Planta	Nombre científico
Amargoso	<i>Ambrosia confertiflora</i>
Canelo	<i>Melia azederach</i>
Higuerilla	<i>Ricinus communis</i>
Lantana	<i>Lantana camara</i>
Matapulgas	<i>Parthenium hysterophorus</i>
Mozote	<i>Bidens pilosa</i>
Oreja de elefante	<i>Xanthosoma robustum</i>
Ruda	<i>Ruta chalepensis</i>
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>
Uña de gato	<i>Zanthoxylum fagara</i>
Zacate de limón	<i>Cymbopogon citratus</i>

- *Ae. aegypti* L cepa Nuevo Orleans, proporcionado por el Departamento de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias biológicas de la UANL
- *Ae. aegypti* L población local, colectada en la colonia Enramada en el municipio de Guadalupe N. L., (N25° 45' 14.4" W100° 15' 26.0") proporcionado por el Departamento de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias biológicas de la UANL.

### **2.1.2 Material de laboratorio**

Cámara bioclimática, Biotronette

Charolas de plástico

Embudos de filtración

Espátulas

Frascos de plástico

Hidrodestilador Clevenger

Matraces bola de 250 y 500mL

Matraz bola fondo plano 3L

Papel filtro N° 40 Whatman

Parafilm Menasha, wi 54952 Pechiney

Pipetas automáticas de 20 a 200µL y de 100 a 1000µL eppendorf

Pipetas Pasteur Corning.

Probetas de 100mL

Pomaderas de vidrio ámbar

Puntillas para pipetas de punto final de 2, 200 y 1000µL eppendorf.

Tubos con tapa de seguridad de 1.5mL eppendorf.

Vasos de precipitado de 250mL

### **2.1.3 Equipo**

Agitador, 37600 Barnstead, Thermolyne

Balanza analítica, GR-120, AND

Balanza granataria, Scout, Ohaus

Licuada 7 velocidades, 594, MAN.

Plancha de calentamiento, PC-351, Corning

Refrigerador, DFR-N142DB, Daewoo

Rotavapor con baño de agua, 461 RE 121, BÜCHI

Ultrasonido, 2510R-DTH, Branson

### **2.1.4 Reactivos**

#### **2.1.4.1 Solventes**

Acetona, grado analítico, Fermont

Dimetil sulfóxido, grado analítico, Fermont.

Eter etílico, anhidro, Fermont

Metanol, grado analítico, Fermont.

Nitrógeno, gas de alta pureza, AGA

Sulfato de sodio, anhidro, CTR.

#### **2.1.4.2 Reactivos especiales**

Alimento para peces Tetrafin. The primary Meal. Tetra. Monterrey. N. L

Levadura instantánea Nevada. SAFMEX. Lesaffre. Monterrey. N. L

Abate Chem Service. Probioteck. Monterrey. N. L

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Selección y colecta de las plantas**

Se realizó una búsqueda bibliográfica en libros de botánica, de remedios, de plantas curativas, farmacopeas herbolarias, revistas científicas y tesis con el propósito de encontrar plantas reportadas con actividad insecticida.

A partir de esta lista se seleccionaron plantas utilizando criterios etnobotánicos, quimiotaxonómicos, y de localización en la región, todo esto con la ayuda del especialista en botánica Biol. Humberto Sánchez. La recolección se realizó en diversos lugares del estado de Nuevo León, ahí se hizo una identificación preliminar. Las plantas colectadas se dejaron secar a temperatura ambiente por dos semanas para eliminar el exceso de agua. Un espécimen de cada planta fue enviado al herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, para confirmar su respectiva clasificación taxonómica.

### **2.2.2. Obtención de los extractos de las plantas**

La parte aérea de cada planta se sometió a una extracción líquido-sólido empleando una proporción de 100g de planta molida con 100mL de éter etílico a temperatura ambiente. La extracción se realizó bajo agitación constante a 160 rpm durante 1h. El extracto se filtró y el residuo se sometió a extracción dos veces más bajo las mismas condiciones. Los tres extractos se juntaron y

se llevaron a sequedad en el rotavapor a temperatura ambiente hasta eliminar el solvente. El extracto sólido se recuperó y se guardó en atmósfera con nitrógeno a 4°C con protección de luz hasta su uso. Todo el residuo sólido se sometió a extracción metanólica siguiendo la misma metodología pero el solvente usado fue metanol y la temperatura de sequedad fue de 37°C.

### **2.2.3. Extracción de los aceites esenciales (Castillo, 2006).**

Especímenes frescos de ruda, tomillo y uña de gato fueron sometidos a hidrodestilación. 250g de planta molida se colocó en 1L de agua en un matraz bola, se calentó a ebullición por 3h; el vapor de agua con los aceites esenciales se condensaron y se formaron dos fases. Al termino del tiempo se retiró primero la fase acuosa y posteriormente los aceites. Estos fueron secados con sulfato de sodio y se almacenaron en atmósfera con nitrógeno a 4°C con protección de luz hasta su uso.

### **2.2.4. Bioensayo (CDC, 2002).**

#### **2.2.4.1. Obtención de huevecillos**

Se trabajó con dos cepas de *Ae. aegypti*, una cepa sensible, Nuevo Orleans y una población local colectada en la colonia Enramada de Guadalupe. Los huevecillos de estos mosquitos se obtuvieron en el laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, de la siguiente manera:

Agua de la llave se dejó reposar durante tres días para utilizarla en todos los ensayos y crianza de los mosquitos.

Los huevecillos de la cepa original se colocaron en una charola de plástico con agua reposada y levadura a 26°C hasta eclosionar. Las larvas en primer instar se trasladaron a una charola para alimentarlas con comida para peces, y se observaron diariamente hasta obtener pupas.

Para obtener los mosquitos, las pupas fueron colocadas en una cámara de desarrollo y posteriormente los mosquitos se liberaron en una jaula de 30x30cm. Al segundo día de emerger se colocó una solución de sacarosa al 10% para alimentar a los mosquitos machos. Las hembras fueron alimentadas cada dos días con sangre humana y sangre de ratón para las cepas Enramada y Nuevo Orleans respectivamente.

Un vaso con papel filtro y agua se colocó dentro de la jaula para que las hembras depositaran los huevecillos. Al segundo día de la oviposición el papel filtro se retiró, se secó a temperatura ambiente y se guardó en un sobre hasta su uso.

#### **2.2.4.2. Crecimiento de larvas**

Una papeleta con huevecillos se transfirió a una charola con agua reposada y levadura a 26°C. Después de un tiempo, las larvas fueron trasladadas a otra charola con agua reposada y alimentadas con comida para peces. Se observaron diariamente hasta seleccionar las larvas en etapas tercer y cuarto instar, que fueron las etapas utilizadas en todos los ensayos.

#### **2.2.4.3. Evaluación de la actividad larvicida.**

La actividad larvicida se analizó con veinte larvas en tercer y cuarto instar frente a diferentes concentraciones de cada extracto o aceite en un volumen de 100mL de agua. Para los extractos metanólicos y etéreos se evaluaron tres concentraciones diferentes por triplicado. Para los aceites

esenciales y extractos etéreos de ruda, tomillo y uña de gato se analizaron cinco concentraciones diferentes por triplicado. Las concentraciones evaluadas fueron:

Extractos metanólicos entre 5ppm-3000ppm disueltos en metanol

Extractos etéreos entre 1ppm-3000ppm disueltos en dimetil sulfóxido.

Aceites esenciales entre 1-70ppm disueltos en dimetil sulfóxido.

La mortalidad se evaluó tomando como criterio la pérdida completa de movilidad al estímulo a las 2, 12, 18 y 24h y posteriormente se calculó la concentración que causa la mortalidad del cincuenta por ciento de las larvas expuestas,  $CL_{50}$ . En todos los ensayos se emplearon controles negativos sin extracto, control positivo con Temefos y controles de solvente con metanol o DMSO.

#### **2.2.4.4. Análisis estadístico**

Todos los datos de mortalidad de las larvas obtenidos con los extractos etéreos, metanólicos y de aceites esenciales se sometieron a análisis de regresión tipo probit para calcular la  $CL_{50}$ .

Los datos de mortalidad de las larvas obtenidos con los extractos etéreos y los aceites esenciales se sometieron a una prueba t de student para determinar su diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

## **CAPITULO 3**

### **RESULTADOS.**

#### **3.1 Selección colecta e identificación de las plantas**

Se realizó una búsqueda bibliográfica de plantas que se utilizan tradicionalmente con este propósito y se encontraron en la región del noreste 26 plantas con actividad mosquiticida, y 30 de actividad plaguicida (Apéndice A).

Las plantas utilizadas en el presente trabajo fueron seleccionadas de acuerdo a criterios etnofarmacológicos y quimiotaxonómicos. La recolección del material vegetal se realizó durante el mes de noviembre del 2007, en diversos lugares del estado de Nuevo León. La lista de plantas se muestra en la Tabla IV. Ruda y Tomillo se adquirieron en viveros y el resto se colectó fuera de la zona metropolitana de Monterrey.

Un espécimen de cada planta se envió al herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y se confirmó su clasificación taxonómica (Apéndice B).



Tabla IV. Lista de plantas recolectadas y adquiridas.

Nombre común	Nombre científico	Lugar de colecta	Fecha de colecta
Amargoso	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Potrero	3 Noviembre 2007
Canelo	<i>Melia azedarach</i>	Potrero	3 Noviembre 2007
Uña de gato	<i>Zanthoxylum fagara</i>	Potrero	3 Noviembre 2007
Zacate de limón	<i>Cymbopogon citratus</i>	Montemorelos	12 Noviembre 2007
Higuerilla	<i>Ricinus communis</i>	Montemorelos	12 Noviembre 2007
Lantana	<i>Lantana camara</i>	Montemorelos	12 Noviembre 2007
Matapulgas	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Montemorelos	12 Noviembre 2007
Mozote	<i>Bidens pilosa</i>	Montemorelos	12 Noviembre 2007
Oreja de elefante	<i>Xanthosoma robustum</i>	Montemorelos	12 Noviembre 2007
Ruda	<i>Ruta chalepensis</i>	Viveros Mty	17 Noviembre 2007
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Viveros Mty	17 Noviembre 2007

### 3.2 Obtención de extractos de las plantas

El material seco de las plantas se sometió a extracción etérea y metanólica. Los porcentajes de recuperación obtenidos se muestran en la Tabla V. Los extractos etéreos produjeron porcentajes de recuperación dentro del rango de 0.85% (Mozote) y 3.12% (Lantana). Los metanólicos, fueron de 1.28% (Oreja de elefante) a 8.97% (Zacate de limón).

Tabla V. Porcentajes de recuperación de extractos etéreos y metanólicos

Planta	Nombre científico	% de recuperación	
		Extractos etéreos	Extractos metanólicos
Amargoso	<i>Ambrosia confertiflora</i>	2.89	4.61
Canelo	<i>Melia azedarach</i>	2.09	5.73
Higuerilla	<i>Ricinus communis</i>	0.99	3.58
Lantana	<i>Lantana camara</i>	3.12	5.65
Matapulgas	<i>Parthenium hysterophorus</i>	2.60	5.29
Mozote	<i>Bidens pilosa</i>	0.85	3.17
Oreja de elefante	<i>Xanthosoma robustum</i>	1.24	1.28
Ruda	<i>Ruta chalepensis</i>	2.59	4.43
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	2.12	5.38
Uña de gato	<i>Zanthoxylum fagara</i>	1.84	5.89
Zacate limón	<i>Cymbopogon citratus</i>	0.86	8.97

### 3.3 Actividad larvica de los extractos.

La actividad larvica sobre *Ae. aegypti*, cepa Nuevo Orleans se determinó a través de la CL<sub>50</sub> de los extractos etéreos y metanólicos de cada planta, a las 2, 12, 18 y 24h. En las Tablas VII y VIII se muestran los resultados. La mayor actividad se encontró en ambos extractos de Ruda (*Ruta chalepensis* L). La CL<sub>50</sub> del extracto etéreo de Tomillo no se pudo calcular a las 24h debido a que se requería concentraciones más bajas de las empleadas (10ppm).

### 3.4 Extracción de aceites esenciales.

Ruda, tomillo y Uña de gato fueron sometidos a la extracción de aceites esenciales. Los resultados de los porcentajes de recuperación se muestran en la siguiente Tabla.

Tabla VI. Porcentajes de recuperación de los aceites esenciales

Aceite esencial	%Recuperación
Ruda	0.10%
Tomillo	0.55%
Uña de gato	0.13%

### 3.5 Actividad larvica de aceites esenciales

La actividad larvica de los aceites esenciales sobre dos poblaciones de *Ae. aegypti*, cepa Nuevo Orleans y la población local de la colonia Enramada en Guadalupe N. L., fue determinada a través de las  $CL_{50}$  en diferente tiempo. La población Nuevo Orleans fue la más sensible a todos los aceites probados, incluyendo al control (temefos). Los aceites de Ruda y Tomillo tuvieron la mayor actividad larvica sobre ambas poblaciones, Tablas IX y X.

Tabla VII. CL<sub>50</sub> de extractos etéreos sobre larvas *Ae. aegypti* cepa Nuevo Orleans (ppm).

Planta	Tiempo (horas)						
	2	12		18		24	
		CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C
Amargoso	N.C.	305.20	280.73 -333.79	200.48	156.70 - 228.50	185.64	152.32 -207.46
Canelo	N.C.	2095.21	N.C.	1384.10	N.C.	1022.22	N.C.
Higuerilla	N.C.	>3000	N.C.	>3000	N.C.	>3000	N.C.
Lantana	N.C.	1429.05	1114.00-3369.45	1129.07	930.61-1995.11	836.47	704.52-1162.62
Matapulgas	N.C.	1837.49	1672.29-1985.11	1556.46	N.C.	<2500	N.C.
Mozote	N.C.	>3000	N.C	>3000	N.C.	1483.31	935.14-1933.78
Oreja de elefante	N.C.	>3000	N.C..	>3000	N.C.	>3000	N.C.
Ruda	N.C.	9.61	5.68-49.79	3.04	N.C.	2.06	1.71-2.45
Tomillo	N.C.	36.52	27.25-48.16	12.20	N.C.	<10	N.C.
Uña de gato	N.C.	331.80	298.80-361.79	203.37	106.63-254.76	170.04	85.20-216.27
Zacate limón	N.C.	>2000	N.C.	1908.36	N.C.	1632.03	1494.04-1819.50

N.C. no se pudo calcular. I.C. Intervalo de confianza 95%. n=3

Tabla VIII. CL<sub>50</sub> de extractos metanólicos sobre larvas *Ae. aegypti* cepa Nuevo Orleans (ppm).

Planta	Tiempo (horas)						
	2	12		18		24	
		CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C
Amargoso	N.C.	N.C.	N.C.	516.93	N.C.	478.88	418.79-519.97
Canelo	N.C.	N.C.	N.C.	1611.28	1408.52-1812.58	642.74	238.26-919.81
Higuerilla	N.C.	3725.15	2792.94-8188.40	1755.60	N.C.	1544.63	N.C.
Lantana	N.C.	1445.25	1256.85-1659.78	1347.73	1150.49-1530.73	1270.42	1085.32-1423.21
Matapulgas	N.C.	>3000	N.C.	>3000	N.C.	>3000	N.C.
Mozote	N.C.	>3000	N.C.	>3000	N.C.	>3000	N.C.
Oreja de elefante	N.C.	>1500	N.C.	1414.52	N.C.	1112.87	945.61-1245.63
Ruda	N.C.	>10	N.C.	8.97	7.93-10.07	6.46	5.10-7.58
Tomillo	N.C.	534.20	472.37-581.97	439.21	353.66-481.31	<500	N.C.
Uña de gato	N.C.	1556.34	1360.47-1748.50	830.63	607.83-980.43	<1000	N.C.
Zacate limón	N.C.	>3000	N.C.	>3000	N.C.	2745.79	2570.16-3038.98

N.C. no se pudo calcular. I.C Intervalo de confianza 95%. n=3

Tabla IX. CL<sub>50</sub> de aceites esenciales sobre larvas *Ae. aegypti* cepa Nuevo Orleans (ppm).

	2h	12 h		18h		24h	
		CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C
Ruda	N.C.	4.28	3.61-5.51	2.92	2.55-3.37	2.69	2.33 - 3.10
Tomillo	N.C.	3.50	3.12- 4.01	2.89	2.54-3.32	2.14	1.81 - 2.47
Uña de gato	N.C.	36.13	33.51-40.33	30.17	28.60- 31.87	27.57	26.10- 28.99
Temefos	N.C.	0.0077	0.0068-0.0089	0.0059	0.0050-0.0071	0.0038	0.0032-0.0045

N.C. no se pudo calcular. I.C Intervalo de confianza 95%. n=3

Tabla X. CL<sub>50</sub> de aceites esenciales sobre larvas *Ae. aegypti*, población local (ppm).

	2h	12h		18h		24h	
		CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C
Ruda	N.C.	25.01	22.25-29.57	22.72	20.24-26.40	20.13	18.08-22.62
Tomillo	N.C.	29.12	27.63-30.65	26.56	25.12-27.90	25.37	23.80-26.76
Uña de gato	N.C.	65.23	62.08-70.86	62.42	59.72- 66.17	60.42	57.69-63.53
Temefos	N.C.	0.0077	0.0062-0.0090	0.0066	0.0049-0.0079	0.0052	0.0037-0.0064

N.C. no se pudo calcular. I.C Intervalo de confianza 95%. n=3

### **3.6 Determinación de la actividad larvica de los tres extractos etéreos más activos sobre *Aedes aegypti* cepa Nuevo Orleans y población local**

Para precisar la CL<sub>50</sub> de los extractos etéreos de Ruda, Tomillo y Uña de gato sobre dos poblaciones de *Ae. aegypti*, cepa Nuevo Orleans y la población local de la colonia Enramada en Guadalupe N. L. Se calculó las CL<sub>50</sub> en diferente tiempo empleando cinco concentraciones diferentes. La población Nuevo Orleans fue la más sensible con todos los extractos probados. El extracto etéreo de Ruda resultó el más activo sobre ambas poblaciones desde las 12h, excepto sobre la cepa Nuevo Orleans donde tuvo la misma actividad con el extracto etéreo de Tomillo(Tablas XI y XII).

### **3.7 Evaluación de diferencia significativa entre aceites esenciales y extractos etéreos**

La actividad larvica de los aceites esenciales fue mayor en comparación con los extractos etéreos. Los resultados se sometieron a una prueba de diferencia utilizando una t de student con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ . Se encontró diferencia significativa entre los extractos etéreos de Tomillo y Uña de gato y sus respectivos aceites esenciales sobre ambas poblaciones. Entre el extracto etéreo de ruda y el aceite esencial no se encontró diferencia significativa en ninguna población (Tablas XIII, XIV).

Tabla XI. CL<sub>50</sub> de extractos etéreos sobre larvas *Ae. aegypti* cepa Nuevo Orleans (ppm).

	2h	12 h		18h		24h	
		CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C
Ruda	N.C.	6.43	4.56-14.92	2.24	1.84-2.65	1.83	1.48-2.15
Tomillo	N.C.	11.91	8.79-20.82	6.29	5.38-7.57	4.45	3.81-5.17
Uña de gato	N.C.	133.23	115.35-169.98	94.44	83.08-107.20	75.13	61.86-85.95
Temefos	N.C.	0.0077	0.0068-0.0089	0.0059	0.0050-0.0071	0.0038	0.0032-0.0045

N.C no se pudo calcular. I.C Intervalo de confianza 95%. n=3

Tabla XII. CL<sub>50</sub> de extractos etéreos sobre larvas *Ae. aegypti* población local (ppm).

	2h	12h		18h		24h	
		CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C	CL <sub>50</sub>	I.C
Ruda	N.C.	36.89	31.0z5-51.66	21.91	19.95-24.43	18.63	16.93-20.45
Tomillo	N.C.	193.69	180.39-215.70	153.20	145.92-161.33	138.00	131.02-144.90
Uña de gato	N.C.	252.73	229.27-288.16	214.24	198.40-232.80	194.68	181.02 - 209.13
Temefos	N.C.	0.0077	0.0062-0.0090	0.0066	0.0049-0.0079	0.0052	0.0037-0.0064

N.C no se pudo calcular. I.C Intervalo de confianza 95%. n=3



Tabla XIII. CL<sub>50</sub> 24h sobre la población Nuevo Orleans (ppm).

	<b>Extracto etéreo</b>	<b>I.C</b>	<b>Aceite esencial</b>	<b>I.C</b>	<b>p</b>
Ruda	1.83	1.48- 2.15	2.69	2.33- 3.10	0.098
Tomillo	4.45	3.81- 5.17	2.24	1.81- 2.47	0.043
Uña de gato	75.13	61.86- 85.95	27.57	26.10- 28.99	0.019

n=3 I.C Intervalo de confianza 95%

Tabla XIV. CL<sub>50</sub> 24h sobre la población local (ppm).

	<b>Extracto etéreo</b>	<b>I.C</b>	<b>Aceite esencial</b>	<b>I.C</b>	<b>p</b>
Ruda	18.63	16.93- 20.45	20.13	18.08- 22.62	0.137
Tomillo	138	131.02- 144.90	25.37	23.80- 26.76	1x10 <sup>-3</sup>
Uña de gato	194.68	181.02- 209.13	60.42	57.69- 63.53	0.008

n=3 I.C Intervalo de confianza 95%

## **CAPÍTULO 4**

### **DISCUSIÓN**

Se han reportado diversas plantas con uso tradicional como repelente o insecticida, la mayoría de ellas son aromáticas, además para algunas ya existen estudios de actividad larvica y otras son utilizadas como ornamentales o aromatizantes (CONABIO, 2009. Villavicencio M y Pérez B, 2005).

Las plantas contienen compuestos no polares que le brindan el aroma y le sirven para atraer posibles insectos polinizadores, proteger a la planta de hongos, parásitos e insectos o puede actuar como inhibidor de crecimiento de vegetales continuos o rivales (Encyclopedia Britannica, 2009). Se ha reportado el aislamiento de aceites esenciales con actividad larvica (Zhu y cols 2008); aunque también se ha reportado la actividad larvica o de repelencia de extractos polares o de mediana polaridad obtenidos con etanol (Pitasawat y cols, 2003). Por este motivo en el presente trabajo se realizaron extracciones con éter etílico para obtener un extracto no polar y posteriormente el residuo se sometió a extracciones con metanol para obtener el extracto con compuestos de mediana polaridad y polares.

Los porcentajes de recuperación obtenidos se encuentran en la Tabla V. Los porcentajes de los extractos etéreos estuvieron en el rango de 0.85% para Mozote, y 3.12% para Lantana; para los extractos metanólicos se obtuvieron desde 1.28% a 8.97% para Oreja de elefante y Zacate de limón, respectivamente. El porcentaje de recuperación más alto fue el del extracto metanólico de Zacate de limón; sin embargo para el extracto etéreo de esta misma planta se obtuvo uno de los porcentajes de recuperación más bajos, lo anterior muestra que esta planta cuenta en mayor cantidad con compuestos polares y medianamente polares, y con pocos compuestos no polares.

Todos los extractos obtenidos fueron sometidos a evaluación de la actividad larvica de acuerdo a la metodología del National Center for Infectious Diseases (CDC, 2002). Con el propósito de determinar las plantas que tienen mayor actividad larvica se utilizó la población sensible de *Ae. aegypti* cepa Nuevo Orleans, debido a que es necesario el uso de una población homogénea. Además en esta primera parte, se trabajó solamente con 3 concentraciones de cada extracto.

La mayor actividad larvica se determinó en los extractos etéreos, los más activos fueron: Ruda (2.06ppm), Tomillo (<10ppm) y Uña de gato (170.04ppm). Además, los extractos metanólicos de estas plantas también mostraron buena actividad larvica. En algunos casos no se determinó la CL<sub>50</sub> debido a que se requerían concentraciones más altas (ej. Zacate de limón) o más bajas (ej. Tomillo y Uña de gato) de las tres utilizadas.

Con base en los resultados obtenidos en esta primera parte del trabajo en la que se demostró la mayor actividad larvica en los extractos etéreos, es decir en los extractos no polares, y de acuerdo con el reporte de Zhu y cols (2008) en el que se demostró la actividad larvica de los aceites esenciales tanto de Canela, Cúrcuma, Sándalo o Eucalipto con olor limón, sobre especies de *Ae. Albopictus*, *Ae. aegypti*, y *Culex pipiens*, se decidió obtener los aceites

esenciales de las plantas más activas (Ruda, Tomillo y Uña de gato) para evaluar la actividad larvicida.

Debido a la volatilidad de los aceites esenciales, en este trabajo fueron obtenidos usando especímenes frescos a través de hidrodestilación (Lucia y cols, 2007); este método es rápido y no involucra gastos de solvente, aunque es necesario una gran cantidad de planta para obtener un poco de aceite esencial.

La actividad larvicida de los extractos etéreos de Ruda, Tomillo y Uña de gato fue evaluada nuevamente para precisar la  $CL_{50}$  sobre dos poblaciones de *Ae. aegypti*, cepa Nuevo Orleans y la población local, haciendo algunas modificaciones: se evaluaron 5 concentraciones diferentes, se utilizó el programa Probit para precisar la  $CL_{50}$ , se utilizó además de la cepa sensible Nuevo Orleans, una población local de Guadalupe N. L. con la finalidad de comparar como se comportaba el extracto en ambas poblaciones. La cepa homogénea se utilizó inicialmente para elegir los extractos más activos y una silvestre que reflejaría el comportamiento de los extractos sobre una cepa local. Los aceites esenciales obtenidos de cada planta también fueron sometidos a los mismos procedimientos con la intención de comparar ambos resultados.

Los resultados de la segunda parte de este trabajo se muestran en las Tablas IX a la XII. Las  $CL_{50}$  de Temefos (control positivo) fue de 0.0038ppm sobre la cepa Nuevo Orleans y de 0.0052ppm sobre la población local, estos resultados confirman la sensibilidad de la cepa Nuevo Orleans. La mayor actividad larvicida fue obtenida del extracto etéreo de Ruda y de su aceite esencial sobre ambas poblaciones. La actividad larvicida tanto de extractos etéreos como de aceites esenciales fue menor sobre la población local.

Las  $CL_{50}$  determinadas para cada extracto o aceite de una misma planta y sobre una cepa de *Ae. aegypti* fueron comparadas utilizando una prueba t de

student. Para el caso de la Ruda no se encontró diferencia significativa entre el extracto etéreo y su respectivo aceite esencial ( $p < 0.05$ ) frente a ambas cepas (Tablas XIII y XIV) por lo que pudiera ser que el extracto etéreo se encuentre en su mayoría constituido por aceites esenciales. En el caso de Tomillo se observó un incremento en la actividad del aceite esencial con respecto al extracto etéreo, particularmente cuando se utilizó la población local. Situación similar se obtuvo con la Uña de gato frente a ambas poblaciones. Esto sugiere fuertemente que los responsables de la actividad larvica en el Tomillo y Uña de gato son los aceites esenciales.

En el presente trabajo se demostró que Ruda (*R. chalapensis*) tiene una importante actividad larvica sobre *Ae. aegypti*. Esta planta pertenece a la familia Rutaceae, es nativa de Europa, especialmente de la región del mediterráneo, es un arbusto de tallos ramificados, hojas carnosas verde-amarillas, las flores de 2 cm son amarillas y poseen cuatro o cinco pétalos. Se ha reportado su uso como repelente de insectos en la preparación de comida, en el tratamiento de amenorrea, espasmos gastrointestinales, parasitosis, várices, hemorroides, dolores de cabeza y reumatitis, su uso oral es limitado, y se evita en mujeres embarazadas por que provoca abortos. A pesar del conocimiento popular de su toxicidad es una planta muy utilizada en México por creencias mágico-religiosas (IPCS, 2009. Conway y cols, 1979). Existe un gran número de reportes científicos que demuestran diversas actividades biológicas de la Ruda, por ejemplo se ha demostrado que la mezcla de aceites esenciales obtenidos de Ruda y Tomillo, presenta actividad repelente contra *Culex pipiens pallens*, *Telmatoscopus albipunctatus*, y *Drosophila melanogaster* (Sugiura y cols, 2002). Se reportó actividad fungicida (Ojala y cols, 2000. Oliva y cols, 2003), inhibidor de crecimiento (Hale y cols, 2004), toxicidad general (Agraa, 2002) y antifertilidad (Kong y cols, 1989). Serrano (2005) determinó que los extractos de diferente polaridad de esta planta presentan toxicidad sobre larvas de camarón (*Artemia salina*) lo cual sugiere que la planta en general podría ser citotóxica de acuerdo con lo reportado por

Logarto y cols, (2001) donde demostraron la correlación entre el ensayo con *A. salina* y la citotoxicidad, aunque en este caso en particular debieran realizarse ensayos de citotoxicidad para comprobarlo.

El Tomillo (*Thymus vulgaris* L.) fue otra de las dos plantas con mayor actividad larvicida. Pertenece a la familia de las labiadas, crece de manera cultivada en la costa, sierra y selva. Es un arbusto perenne, posee tallos leñosos grisáceos, hojas lanceoladas u ovadas, con el envés cubierto de vellosidad blanquecina, flores rosadas y blancas. Es utilizado como repelente, en la preparación de carnes, sopas y guisos, como antiséptico, antiespasmódico, expectorante, antirreumático, para aliviar dolores de cabeza, como aromatizante y relajante (Fern, 1997). Varios artículos científicos reportan que el aceite esencial de *T. vulgaris* tiene diferentes funciones: como larvicida contra el mosquito *Ochlerotatus caspius* (Knio y cols, 2008), como repelente sobre la especie *Ae. albopictus* (Zhu y cols, 2006); como insecticida contra la mosca doméstica (Pavela, 2007) y contra *Lycoriella ingenua* (Il-Knwon y cols 2008). Por otro lado se ha aislado el carvacrol y timol que tienen actividad acaricida (Jeong y cols, 2008), se demostró su actividad antioxidante *in vitro* (Kulisic, 2005). Serrano (2005) determinó la falta de toxicidad de Tomillo en fracciones de diferente polaridad sobre larvas de *Artemia salina*.

Uña de gato (*Zanthoxylum fagara* L.) demostró actividad larvicida menor que Ruda y Tomillo pero mayor que el resto de las plantas incluidas en el presente. Pertenece a la familia de las Rutáceas, es nativa de Florida y el caribe. Es un arbusto verde-amarillo de gran tamaño, que puede llegar a crecer como árbol con el paso de los años, presenta ramas con espinas en forma de uña de gato, hojas alternas menores de 2 pulgadas. Sirve como hábitat para el desarrollo de mariposas ya que no es común el desarrollo de muchos insectos o plagas. También se utiliza para delimitar terrenos, y en medicina tradicional se emplea como analgésico, antidiarreico y en enfermedades orales y respiratorias (Edward, 1999). En la literatura se describe una amida aromática

nombrada fagaramida la cual se ha aislado de diferentes especies de *Zanthoxylum* incluyendo *Z. fagara* (Goodson, 1921. Robbers, 1998); por otro lado Navarrete y cols en el 2003 demostraron que la fagaramida tiene actividad larvica sobre *Culex quinquefasciatus* con una  $CL_{50} = 7.92 \pm 1.22$  ppm, y que posee un efecto aditivo con  $\alpha$ -sanshool que es utilizado como larvica. Además Ogwal-Okeng y cols en el 2003 determinaron que el extracto metanólico de raíz de *Z. fagara* no fue tóxico sobre ratones; también se ha reportado su actividad antimicrobiana (Setzer y cols 2005). Otras especies relacionadas con el mismo género se han reportado con actividades de interés para el presente trabajo, como por ejemplo actividad larvica de *Z. piperitum* (Kazutaka y cols 1950); *Z. macrophyllum* demostró actividad antiplasmódica (Zirihi y cols, 2007); y *Z. acanthopodium* no resultó toxico (Bagchi y Ganguly, 1943).

En base a los resultados obtenidos se puede recomendar el uso de los aceites esenciales de las plantas Ruda, Tomillo y Uña de gato como larvicidas. Si bien, la actividad larvica determinada no es comparable con el larvica de uso actual (Temefos), estos aceites esenciales pueden contribuir al control larvico, mas si se demuestra una mayor actividad con mezclas entre ellos mismos o con otros insecticidas. Así por ejemplo la sesamina obtenida de la fabricación del aceite virgen de ajonjolí que es utilizada como sinergista de insecticidas del grupo de las piretrinas, sin ser por sí misma insecticida (Calle, 2007). Algunos pueden aumentar la actividad de repelencia de otros productos de plantas, como ha sido reportado por Cox (2005) quien demostró la interacción entre el geraniol con los aceites esenciales de citronela, soya o con el de eucalipto.

Los fitoinsecticidas constituyen una interesante alternativa de control de insectos. Este tipo de insecticidas elimina los problemas de residualidad, bioacumulación y carcinogénesis (como los organoclorados) y el alto efecto

tóxico en organismos no plaga y en mamíferos (como carbamatos y organofosforados).



## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES

- Ruda (*Ruta chalepensis*), Tomillo (*Thymus vulgaris*) y Uña de gato (*Zanthoxylum fagara*) demostraron actividad larvica contra *Aedes aegypti*.
- De las once plantas evaluadas la de mayor actividad larvica a las 24h fue *Ruta chalepensis*.
- Los aceites esenciales de las tres plantas activas son los responsables de la actividad larvica en comparación con los extractos etéreos.

## **CAPITULO 6**

### **PERSPECTIVAS**

- Analizar la citotoxicidad de los aceites esenciales y extractos activos.
- Evaluar la actividad mosquiticida de los aceites esenciales obtenidos.
- Identificar el o los compuestos responsables de la actividad larvica de los aceites esenciales.
- Probar mezclas de aceites para buscar efecto sinergista.
- Elaborar la preformulación de los aceites

## BIBLIOGRAFIA

- Alonso J, **Plantas insecticidas**. Red electrónica de la papa. <http://www.redepapa.org/plantasinsecticidas.pdf>, Última actualización: 18 Enero 2009
- Agraa S, Badwi S, Adam S. **Preliminary observations on experimental *Ruta graveolens* toxicosis in Nubian goats**. Department of Veterinary Medicine, Pharmacology and Toxicology, University of Khartoum. Tropical animal health and production, 2002: 34(4), 271-81.
- Avendaño E, **Sistema de información agraria. Biocidas**. [http://sia.huaral.org/sia\\_uploads/10ecacb8e1dfc97d8af3e4e5ee4202d9/PLAN\\_TAS\\_BIOCIDAS\\_foto.doc](http://sia.huaral.org/sia_uploads/10ecacb8e1dfc97d8af3e4e5ee4202d9/PLAN_TAS_BIOCIDAS_foto.doc) Fecha de consulta Enero 2009
- Blanco S. **Dengue situación actual 2004. Boletín Epidemiológico periódico**. Ministerio de salud de la nación. 2004, 2-5
- Bagchi K, Ganguly H. **Toxicology of the fruits of *Zanthoxylum acanthopodium* DC**. Annals of Biochemistry and Experimental Medicine, 1943: 3(1), 35-8.
- Calle A. **Aislamiento, purificación e identificación de sesamina a partir de lodos de microfiltrado en la fabricación del aceite virgen de *Sesamum indicum* L. (ajonjolí)**. Rev. Col. Cienc. Quím. Farm, 2007: 36(1), 5-10.
- Canales M, Hernández D, Caballero N, Romo de Vivar A, Durán D, Lira S. **Análisis Cuantitativo del Conocimiento Tradicional de las Plantas Medicinales en San Rafael, Coaxcatlán, Valle de Tehuacán- Cuicatlán, Puebla, México**. Acta Botánica Mexicana, 2006: 75, 21-43.
- Carballo M, Cortada C, Galano A. **Riesgos en el consumo de las Plantas Medicinales**. Theoria, 2005: 14(2), 95-108.
- Castillo S. **Identificación de componentes bioactivos en extractos de *Chrysactinia mexicana***. Tesis pregrado Químico Clínico Biólogo. Facultad de Medicina. UANL, 2006.
- CENAVE. (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica) Secretaria de salud. **Descripción detallada del Dengue**. [www.cenave.gob.mx/dengue](http://www.cenave.gob.mx/dengue). Fecha de última consulta Enero 2009.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Evaluating Mosquitoes for Insecticide Resistance Web- Based Instruction**. 2002. <http://www.cdc.gov/ncidod/wbt/resistance/assay/larval/index.htm> Fecha de última consulta Enero 2009
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). División of Vector-Borne Infectious Diseases. (DVBID). **Dengue Fever. Clinical and public health aspects**. Fecha de actualización: Feb 2008. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbld/dengue/slideset/set1/vii/slide13.htm> Fecha de última consulta Enero 2009

- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). **Plantas con actividad insecticida**. <http://www.conabio.gob.mx/> Fecha de última consulta Enero 2009.
- Conway G, Slocumb J. **Plants used as abortifacients and emmenagogues by Spanish New Mexicans**. Journal of ethnopharmacology, 1979: 1(3), 241-61.
- Cox C. **Plant-based mosquito repellents: Making a careful choice**. Journal of Pesticide Reform, 2005: 25(3), 6-7
- De la Cruz A, Mesa A, San Martín J. **La comunidad y el control de Aedes aegypti: percepción y comportamiento respecto al larvicida abate**. Rev Cubana Med Trop, 2001: 53(1), 44-7.
- Domínguez V. **Dengue**. Periódico de los universitarios. Universo. Septiembre. Xalapa Veracruz México. 2005, (165), 5.
- Edward F. **Zanthoxylum fagara**. Environmental Horticulture Department, University of Florida. Cooperative extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences, 1999, 1-3
- Encyclopedia Britannica. **Essential oil**. Online. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/193135/essential-oil> Fecha de última consulta Enero 2009
- EPA. Environmental Protection Agency. **Types of pesticides**. 2007. <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm> Fecha de última consulta Enero 2009
- EPA. Environmental Protection Agency. **Biopesticides**. 2008. <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/> Fecha de última consulta Enero 2009
- Fern K. **Edible, medicinal and useful plants for a healthier worlds**. Plants for a future, 1997. <http://www.pfaf.org/database/plants> Fecha de consulta Enero 2009.
- Fernández I, **Biología y Control de Aedes aegypti. Manual de operaciones**. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey México, 1999, 13-22.
- Grieve M, **Botanical.com. A Modern Herbal** <http://www.botanical.com/botanical/mgmh/mgmh.html> Fecha de última consulta Enero 2009.
- Gobierno del Estado de Nuevo León. Secretaría de Salud. **Casos de dengue en Nuevo León 2008**. Administración 2003-2009. [http://www.nl.gob.mx/?P=salud\\_familia\\_enf\\_dengue](http://www.nl.gob.mx/?P=salud_familia_enf_dengue) Fecha de última consulta Enero 2009

- Gonzalo S. **Botanical Insecticides**. IPM World Textbook. University of Minnesota Radcliffe's. 2002. <http://ipmworld.umn.edu/chapters/SilviaAguayo.htm> Fecha de última consulta Enero 2009
- Goodson J. **Constituents of the bark of *Zanthoxylum macrophyllum***. Biochemical Journal, 1921: 15, 123-8.
- Hale A, Meepagala K, Oliva A, Aliotta G, Duke S. **Phytotoxins from the Leaves of *Ruta graveolens*** J. Agric. Food Chem, 2004: 52(11), 3345-3349.
- Il-Kwon P, Junheo N, Yeon-Suk L, Sang-Gil L, Young-Joon A, Sang-Chul S. **Toxicity of plant essential oils and their components against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae)**. Journal of Economic Entomology, 2008: 101(1), 139-144.
- Il-Kwon P, Sang-Chul S, Chul-Su K, Hak-Ju L, Won-Sil C y Young-Joon A. **Larvicidal Activity of Lignans Identified in *Phryma leptostachya* Var. *asiatica* Roots against Three Mosquito Species** J. Agric. Food Chem, 2005: 53 (4), 969-972
- Iturrino M. **Seroprevalence of dengue virus antibodies in asymptomatic Costa Rican children, 2002–2003: a pilot study**. Pan Am J Public Health, 2006: 20(1), 39–43.
- Jeong E, Lim J, Kim H, Lee H, Chonbuk. **Acaricidal activity of *Thymus vulgaris* oil and its main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored food mite**. Journal of Food Protection, 2008: 71(2), 351-355.
- Knio K, Usta J, Dagher S, Zournajian H, Kreydiyyeh S. **Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius***. Bioresource Technology, 2008: 99(4), 763-768.
- Kong Y, Lau C, Wat K, Ng K, But P, Cheng K, Waterman P. **Antifertility principle of *Ruta graveolens***. Planta Med, 1989: 55(2), 176-8
- Kulisic T, Radonic A, Milos M. **Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils**. Italian Journal of Food Science, 2005: 17(3), 315-324.
- Logarto A, Silva R, Guerra I, Iglesias L. **Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts**. Phytomedicine, 2001: 8(5), 395-400.
- Lucia A, Gonzalez A, Seccacini E, Licastro S, Zerba E y Masuh H. **Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae**. Journal of the American Mosquito Control Association, 2007: 23(3), 299–303

- Monath T. **Yellow fever and dengue, the interactions of virus, vector and host in the re-emergence of epidemic disease.** Sem Virol. 1994: 5, 133-45.
- Montiel A. G. Gobierno del estado de Nuevo León. **Conferencia de dengue, situación actual.** Administración 2003-2009. Sala de prensa 1. Septiembre 2007.
- Navarrete A, Flores A, Sixtos C, Reyes B. **Isobolographic analysis of interactions among,  $\alpha$ -sanshool, asarinin, fagaramide and piperine on the larvicidal activity in *Culex quinquefasciatus* Say.** Revista de la Sociedad Química de México, 2003: 47(2), 178-185
- Ogwal-Okeng J, Obua C, Anokbonggo W. **Acute toxicity effects of the methanolic extract of *Fagara zanthoxyloides* (Lam.) root-bark,** Faculty of Medicine, Department of Pharmacology and Therapeutics, Uganda. African health sciences, 2003: 3(3), 124-6.
- Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K y Vuorela P. **Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland.** Journal of Ethnopharmacology. 2000, 731-2, 299-305.
- Oliva A, Meepagala K, Wedge D, Harries D, Hale A, Aliotta G, Duke S,. **Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid.** Journal of agricultural and food chemistry, 2003: 51(4), 890-6.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud). **Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: Guías para su prevención y Control.** Publicación científica 1995: 548. <http://www.paho.org/Spanish/HCP/HCT/VBD/arias-dengue.htm> Fecha de última consulta Enero 2009.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud). **Plan detallado de acción para la prevención y control del dengue.** Oficina Sanitaria Panamericana, 1999. <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/hct-136-99.pdf> Fecha de última consulta Enero 2009.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud). **Dengue en las Américas, Brote de dengue en Paraguay, 2007.** Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes, región de las Américas, 2007: (4)1,9. <http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/eid-eer-ew.htm> Fecha de última consulta Enero 2009.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud), OMS (Organización Mundial de la Salud) **27ª Conferencia Sanitaria Panamericana. 59ª sesión del comité regional.** Washington, D.C., EUA, 1-5 de octubre del 2007. <http://www.paho.org/spanish/gov/csp/csp27index-s.htm> Fecha de última consulta Enero 2009.
- Pavela R. **Lethal and sublethal effects of thyme oil ( *Thymus vulgaris* L.) on the house fly (*Musca domestica* Lin.).** Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 2007: 10(5), 346-356.

- Pitasawat B, Choochote W, Tuetun B, Tippawangkosol P, Kanjanapothi D, Jitpakdi A, Riyong D. **Repellency of aromatic turmeric *Curcuma aromatica* under laboratory and field conditions.** Journal of Vector Ecology, 2003: 28(2), 234-240.
- Robbers J, Varro E. **Tyler's. Herbs of Choice: The Therapeutic Use of Phytomedicinals.** Nervous System Disorders, 1998, 177-178pp.
- Secretaria de Salud, Subsecretaria de prevención y promoción de la salud. **Programa intersectorial prevención y control del dengue.** CENAVECE. 2008. [http://dgps.salud.gob.mx/interior/dengue\\_08/Dengue\\_2008/7\\_abril/cenavece/intersectorialidad\\_dengue\\_ja.ppt](http://dgps.salud.gob.mx/interior/dengue_08/Dengue_2008/7_abril/cenavece/intersectorialidad_dengue_ja.ppt) Fecha de última consulta Enero 2009
- Serrano G. **Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de ileon de cobayo.** Tesis Doctoral Química Biomédica. Facultad de Medicina UANL. Febrero 2005.
- Setzer W, Schmidt J, Eiter L, Haber W. **The leaf oil composition of *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. from Monteverde, Costa Rica, and its biological activities.** Journal of Essential Oil Research, 2005: 17(3), 333-335.
- Sugiura M, Ishizuka T, Neishi M. **Flying insect repellents containing essential oils.** Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 2002, 7.
- Tanovic B, Milijasevic S, Todorovic B, Potocnik I. **Toxicity of essential oils to *Botrytis cinerea* Pers. in vitro.** Pesticidi i Fitomedicina, 2005: 20(2), 109-114.
- The international programme on Chemical Safety (IPCS). ***Ruta graveolens*.** Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. Pronczuk 1989. <http://www.inchem.org/> Fecha de consulta: Enero 2009.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). **DDT Regulatory History: A Brief Survey (to 1975).** Ultima actualización septiembre 2007. <http://www.epa.gov/history/topics/ddt/02.htm> Fecha de última consulta Enero 2009.
- Valdez A, Aguilar C, López V, María E, Xolalpa M, **Herbolaria Mexicana.** CONACULTA, 1ª Edición, México, 2002.
- Villavicencio M, Pérez B. **Guía de la flora útil de la Huasteca y la zona Otomí-Tepéhua, Hidalgo I.** Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de investigaciones biológicas, 2005.
- Ware G, Whitacre D. **The Pesticide Book**, 6th ed. Information Resources de Meister Media Worldwide Willoughby Ohio, 2004. <http://www.pesticidebook.com/> Fecha de última consulta Enero 2009

- Yamaguchi K, Suzuki T, Katayama A, Sasa M, Lida S. **Insecticidal action of Japanese plants. II. A general method of detecting effective fractions and its application to 24 species of insecticidal plants.** Natl. Hyg. Lab. Tokyo, Bochu Kagaku, 1950: 15(2), 62-70.
- Zhu J, Zeng X, O'Neal M, Schultz G, Tucker B, Coats J, Bartholomay L, Xue R. **Mosquito larvicidal activity of botanical-based mosquito repellents.** Journal of American Mosquito Control Association, 2008: 24 (1), 161-168.
- Zhu J, Zeng X, Yanma L, Qian K, Han Y, Xue S, Tucker B, Schultz G, Coats J, Rowley W, Zhang A. **Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes.** Journal of the American Mosquito Control Association, 2006: 22(3), 515-522.
- Zirihi G, Datte J, Kra-adou K, Grellier P. **Phytochemical and pharmacological studies of alcoholic extract of *Fagara macrophylla* (Oliv) Engl (Rutaceae) : chemical structure of active compound inducing antipaludic activity.** Journal of Chinese Clinical Medicine, 2007: 2(4), 205-210.